

不同石榴品种的花粉量和花粉生活力比较

吴亚君¹,李洪涛²,李东伟³,胡青霞¹,赵玉洁¹,陈延惠^{1*}
(1.河南农业大学 园艺学院,河南 郑州 450002; 2.郑州市城市园林科学研究所,
河南 郑州 450003; 3.新郑市林业局,河南 新郑 451100)

摘要:以13个石榴品种为试材,测定不同石榴品种的花瓣数、花药数、单花药花粉量及花粉的生活力,研究不同测定方法、贮藏温度对花粉生活力的影响。结果表明:不同石榴品种花朵各指标间无明显相关性;石榴花粉在含有100、200、300 g/L蔗糖的培养基中萌发能力不同,300 g/L蔗糖质量浓度下萌发率最高;悬滴液发芽法测得的花粉生活力值较联苯胺染色法低,采用悬滴液发芽法测定13个品种花粉萌发率为32.2%~98.6%,其中,峰城软籽、大红甜、新疆大籽花粉萌发率高,分别为98.6%、92.9%、92.0%,采用联苯胺染色法测得多个品种花粉染色率达100%;所有供试石榴品种花粉生活力室温贮藏5 d后全部失活,4℃条件可有效延长石榴花粉贮藏时间至20 d。
关键词:石榴;花粉量;花粉生活力
中图分类号:S665.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-3268(2015)03-0115-05

Comparison of Pollen Viability and Quantity of
Different Pomegranate Varieties

WU Yajun¹, LI Hongtao², LI Dongwei³, HU Qingxia¹, ZHAO Yujie¹, CHEN Yanhui^{1*}
(1. College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;
2. Zhengzhou Institute of Urban Landscape and Architecture, Zhengzhou 450003, China;
3. Xinzheng Forestry Bureau, Xinzheng 451100, China)

Abstract: The number of petals, anther, pollen per anther and pollen viability of 13 pomegranate varieties were tested under the conditions of different sucrose concentration and normal temperature and cold storage by different determination method. The results showed that there was no obvious correlation in pomegranate flowers index among the pomegranate varieties. The pollen had different germination rate in medium containing 100, 200, 300 g/L sucrose, and the germination rate was highest in the medium containing 300 g/L sucrose. The pollen geimination rate of 13 pomegranate varieties was 32.2%—98.6% determined by suspended drip germination method, which was lower than that by benzidine staining method. Yicheng soft seeds, Bright red sweet and Xinjiang big seeds had higher germination rate with 98.6%, 92.9%, 92.0% determined by suspended drip germination method, and the germination rates of many pomegranate varieties were 100% determined by the method of benzidine staining. And the pollen could be maintained only five days at room temperature, 20 days under 4℃ refrigeration.
Key words: pomegranate; pollen number; pollen viability

石榴(*Punica granatum* L.)是我国古老的栽培 丘陵山地,也可应用于管理粗放的城乡绿化^[1-2],在
果树之一。它抗性强、耐瘠薄,可种植于土层较浅的 全国各地广泛分布,资源极为丰富^[3-4]。同时石榴

收稿日期:2014-09-25
基金项目:河南省2013成果转化项目(30600525)
作者简介:吴亚君(1990-),女,河南许昌人,在读硕士研究生,研究方向:果树育种。E-mail:yeyeyulinling@163.com
* 通讯作者:陈延惠(1963-),女,河南南阳人,教授,硕士,主要从事园艺遗传育种方面的研究。
E-mail:chenyanhui188@163.com

又具有较高的药用价值及观赏价值,在当前产业结构调整形势下,石榴具有广阔的发展前景^[5-7]。

石榴在花期如遇阴雨、低温等不良天气时,授粉质量受到影响,产量降低^[8]。因此,选择花粉量大且花粉生活力强的品种作为授粉品种可有效提高授粉率,增加产量。近几年,先后有桃、苹果、枣、甜樱桃、核桃、杏、葡萄等^[9-15]花粉生活力的相关研究报道,但尚未见石榴花粉量及相应生活力的相关报道。本研究通过测定不同品种石榴的花瓣数、花药数、花粉量、花粉萌发率,初步筛选出花粉量多、萌发率高的石榴品种、适宜的花粉生活力测定方法及其贮藏方法,以期对石榴良种选育、适宜授粉树选择及相关领域的研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料取自河南农业大学郑州石榴资源圃。于 2014 年 5 月 4 日晴天上午采大红甜、临选 14、豫大籽、公斤石榴、青皮石榴、泰山红、南阳红、峰城软籽、三白石榴、新疆大籽、突尼斯软籽、河阴石榴、牡丹花石榴 13 个品种健壮植株上花瓣松动或初开未散粉的花朵,在实验室内去除花瓣,将花药置于干燥的培养皿中,使其常温散粉。置于干燥器中后放入恒温箱中,黑暗条件保存。

1.2 花粉贮藏温度

将采集的花粉分别在室温(25℃)和 4℃冰箱贮藏,每天测定室温贮藏花粉的花粉萌发率,待其全部失活后测定 4℃贮藏的花粉萌发率,比较贮藏温度对石榴花粉萌发率的影响。

1.3 测定指标和方法

1.3.1 花瓣数及花药数的统计 供试品种中每个品种随机选取 3 朵花,用镊子将其花瓣和花药分别取下,统计每朵花发育良好的花瓣数及花药数,求其平均值。

1.3.2 花粉量的测定 采用果胶酶酶解法。分别取完整花药 10 枚放入 1 mL 离心管中,待花粉完全散出,加入 2% 果胶酶 1 mL,处理 12 h,使粘连在花药壁上的花粉粒游离出来。充分振荡后,取 5 μ L 溶液滴于载玻片上,在光学显微镜下统计花粉数量,每个样品重复播 3 片,每片观察 3 个视野,观察的花粉粒在 100 粒以上。单花药花粉量 = (每个载玻片上总花粉粒数 \times 200)/10,花粉量 = 花药数 \times 单花药花粉量。

1.3.3 花粉生活力的测定 室温贮藏的花粉散粉

1 d 后,分别采用悬滴液发芽法和联苯胺染色法定花粉生活力,比较不同测定方法对花粉生活力测定值的影响。

悬滴液发芽法:蔗糖溶液设置 100、200、300 g/L 3 个处理,分别滴 1 滴在凹玻片的凹槽处,用大头针取少量花粉置于溶液中。将凹玻片放在 20~25℃、湿度 70%~80% 的瓷盘中加盖。12 h 后在光学显微镜下统计发芽花粉粒的数量。生活力正常的花粉发芽时呈圆形,花粉管直线延伸;生活力差的花粉发芽后其花粉管弯曲;没有生活力的花粉粒不能萌发。萌发率 = 已发芽的花粉数/花粉总数 \times 100%。

联苯胺染色法:以干棉球蘸少量花粉,振播到载玻片上,滴入试剂,用玻璃棒将花粉和溶液搅拌均匀,静置 3~4 min 后观察。凡被染成红色、玫瑰红、紫红色的花粉粒即被认为具有生活力,呈色愈深,表明生活力愈强。失去生活力的花粉则呈淡黄色或无色。染色率 = 视野内被染红色的花粉数/花粉总数 \times 100%。

每个样品重复播 3 片,每片观察 3 个视野,观察的花粉粒在 100 粒以上。

1.4 数据统计

运用 SPSS 软件,采用邓肯氏新复极差法对数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同品种石榴的花朵形态

经 SPSS 分析得出,石榴花瓣数与花药数间相关系数为 0.443,呈中等相关;花瓣数与单花药花粉量间相关系数为 -0.025,即没有相关性;花药数与单花药花粉量间相关系数为 -0.153,呈弱的负相关。从表 1 可以看出,牡丹花石榴为重瓣品种,其花瓣数为 41.3 片,显著高于其他品种。单瓣品种中,大红甜花瓣数较多,为 7.3 片,峰城软籽花瓣数较少,为 4.7 片,其余品种花瓣数多为 5~6 片。大红甜的花药数最多,为 391.7 粒,其次是临选 14、公斤石榴和牡丹花石榴,分别为 346.3、340.3、323.3 粒。可见,花瓣数与花药数无必然联系。泰山红单花药花粉量最多,为 51 326.7 粒,其次是豫大籽、牡丹花石榴和河阴石榴,分别为 43 126.7、42 926.7、30 040.0 粒。牡丹花石榴花粉量最多,为 138.8×10^5 粒,其次是泰山红、豫大籽,分别为 133.1×10^5 、 113.3×10^5 粒。其中,只有牡丹花石榴花药数、单花药花粉量和花粉量 3 项指标均较高,这可能与其是重瓣花的特性相关。

表 1 不同品种石榴的花朵形态比较

品种	花瓣数 /片	花药数 /粒	单花药花 粉量/粒	花粉量/ (×10 ⁵ 粒)
大红甜	7.3b	391.7a	21 913.3def	85.8d
临选 14	5.0b	346.3b	13 980.0gh	48.4f
豫大籽	5.0b	262.7c	43 126.7b	113.3c
公斤石榴	6.3b	340.3b	8 866.7h	30.2k
青皮石榴	6.0b	195.3de	20 166.7efg	39.4i
泰山红	6.3b	259.3c	51 326.7a	133.1b
南阳红	6.0b	229.7cd	21 053.3ef	48.4f
峰城软籽	4.7b	192.3de	19 480.0efg	37.5j
三白石榴	5.3b	171.7e	27 540.0cd	47.3g
新疆大籽	6.0b	192.3de	22 346.7de	43.0h
突尼斯软籽	5.7b	178.7e	15 580.0fg	27.8l
河阴石榴	5.7b	186.7de	30 040.0c	56.1e
牡丹花石榴	41.3a	323.3b	42 926.7b	138.8a

注:同列不同小写字母表示在 5% 水平上差异显著 ($P < 0.05$),下同。

2.2 不同测定方法对石榴花粉生活力测定值的影响

由表 2 可知,采用联苯胺染色法测得的染色率明显高于采用悬滴液发芽法测得的萌发率,其中,峰城软籽、大红甜、新疆大籽花粉萌发率高,分别为 98.6%、92.9%、92.0%。泰山红花粉的萌发率和染色率均偏低,分别为 41.6% 和 84.8%,可以推断泰山红的花粉生活力较其他品种相对较低。豫大籽、三白石榴的花粉萌发率均低于 50%,分别为 32.2%、41.5%,而其相应花粉染色率均为100.0%,这可能是由于联苯胺染色法染色时生活力弱的花粉粒(包括畸形花粉粒)也可被染色。因此,联苯胺染色法只能作为一种花粉生活力测定的参考方法,悬滴液发芽法测定石榴花粉生活力更为可靠。

表 2 不同测定方法下石榴花粉生活力测定值比较

品种	萌发率(悬滴液 发芽法)/%	染色率(联苯胺 染色法)/%
大红甜	92.9a	98.3a
临选 14	66.4bc	95.6a
豫大籽	32.2d	100.0a
公斤石榴	64.9c	97.6a
青皮石榴	64.6c	98.1a
泰山红	41.6d	84.8b
南阳红	72.7bc	100.0a
峰城软籽	98.6a	94.3a
三白石榴	41.5d	100.0a
新疆大籽	92.0a	100.0a
突尼斯软籽	78.7b	97.8a
河阴石榴	62.6c	93.8a
牡丹花石榴	78.2b	97.4a

2.3 不同质量浓度蔗糖对石榴花粉萌发率的影响

由表 3 可以看出,培养基中不同质量浓度(100、200、300 g/L)的蔗糖对花粉萌发率有显著影响。在一定质量浓度范围内,随着蔗糖质量浓度的升高,花

粉萌发率升高,其中,300 g/L 蔗糖对花粉萌发率的促进作用最好。大红甜、新疆大籽在低质量浓度蔗糖条件下花粉萌发率表现良好,与其他品种相比受蔗糖浓度变化的影响较小。豫大籽、泰山红、三白石榴在 300 g/L 蔗糖条件下萌发率分别为 32.2%、41.6%、41.5%,均低于 50%;豫大籽、泰山红、三白石榴染色率很高,分别为 100.0%、84.84%、100.0%(表 2),无法判断以上 3 种品种花粉是否大量畸形或生活力弱,可通过适当提高蔗糖浓度观察萌发率变化来研究。

表 3 不同质量浓度蔗糖下石榴花粉萌发率比较 %

品种	蔗糖质量浓度/(g/L)		
	100	200	300
大红甜	63.1c	81.7b	92.9a
临选 14	12.2b	56.1a	66.4a
豫大籽	4.8b	15.0b	32.2a
公斤石榴	29.6b	61.6a	64.9a
青皮石榴	12.5b	11.0b	64.6a
泰山红	9.9b	28.9ab	41.6a
南阳红	19.3b	61.2a	72.7a
峰城软籽	14.7b	17.8b	98.6a
三白石榴	10.1b	13.4b	41.5a
新疆大籽	69.3b	71.2b	92.0a
突尼斯软籽	10.3c	55.0b	78.7a
河阴石榴	21.9b	65.8a	62.6a
牡丹花石榴	5.7c	43.0b	78.2a

注:同行不同小写字母表示在 5% 水平差异显著 ($P < 0.05$)。

2.4 不同贮藏温度对石榴花粉萌发率的影响

由表 4—5 可知,室温 25 ℃ 条件下贮藏花粉萌发率较 4 ℃ 条件下差。花粉在室温 25 ℃ 条件下贮藏 5 d 后全部失活,而在 4 ℃ 条件下贮藏 5 d 后萌发率依然较高。室温条件下,散粉初期花粉萌发率最高的分别为峰城软籽、大红甜和新疆大籽,其中,大红

表 4 室温贮藏下石榴花粉萌发率的比较 %

品种	散粉后时间/d				
	1	2	3	4	5
大红甜	92.9	91.8	30.1	20.3	0
临选 14	66.4	31.0	21.9	8.3	0
豫大籽	32.2	81.1	3.0	1.8	0
公斤石榴	64.9	59.3	41.9	15.0	0
青皮石榴	64.6	57.3	16.8	12.9	0
泰山红	41.6	46.9	17.0	15.0	0
南阳红	72.7	33.4	24.4	12.8	0
峰城软籽	98.6	20.2	5.4	4.8	0
三白石榴	41.5	37.6	10.1	5.6	0
新疆大籽	92.0	83.1	54.6	31.2	0
突尼斯软籽	78.7	89.5	30.6	2.9	0
河阴石榴	62.6	84.7	9.3	2.8	0
牡丹花石榴	78.2	3.6	1.9	0	0

甜和新疆大籽花粉贮藏 5 d 后仍有较高萌发率,而峰城软籽花粉室温贮藏后迅速大量失活。豫大籽、泰山红、突尼斯软籽、河阴石榴散粉 2 d 后测得花粉萌发率均有所提高,其中,豫大籽最为显著。4 ℃ 条件可有效延长石榴花粉贮藏时间至 20 d。

表 5 4 ℃ 贮藏下石榴花粉萌发率的比较 %

品种	散粉后时间/d			
	7	11	15	20
大红甜	63.0	12.9	0	0
临选 14	41.7	22.0	11.7	1.3
豫大籽	17.3	7.8	7.1	0.6
公斤石榴	62.6	0	0	0
青皮石榴	24.4	8.8	3.6	0.8
泰山红	30.9	3.5	0	0
南阳红	31.2	15.7	2.5	0.8
峰城软籽	22.2	8.3	0	0
三白石榴	28.7	26.0	0	0
新疆大籽	55.8	0	0	0
突尼斯软籽	34.8	30.0	0	0
河阴石榴	43.7	0	0	0
牡丹花石榴	18.8	12.2	5.5	0

3 讨论

花粉生活力测定方法在多种园艺植物中都有报道^[16-19]。相关报道认为,100 ~ 200 g/L 蔗糖更适宜于花粉萌发^[20],但不同树种之间存在显著差异,一般而言,桃 100 g/L,柑橘 250 ~ 300 g/L,梨 100 ~ 150 g/L^[21]。本研究表明,300 g/L 蔗糖利于石榴花粉萌发。因本试验仅设计了 3 个蔗糖质量浓度梯度,推测石榴花粉也可能在 300 g/L 左右或 300 g/L 以上的蔗糖质量浓度下萌发率更高。在一定质量浓度范围内,蔗糖可有效促进花粉萌发,这与黄家兴等^[22]、刁永强等^[23]、赵长星等^[24]的研究结果相同。悬滴液发芽法适宜于石榴花粉生活力的测定,而联苯胺染色法可将畸形花粉染色,结果不够准确。

除了牡丹花石榴外,石榴花瓣数无显著差异,花药数、单花药花粉量、花粉量存在显著差异,同一石榴品种花瓣数、花药数及单花药花粉量无显著相关性。4 ℃ 条件适宜花粉的贮藏及其生活力的保持,可有效延长石榴花粉贮藏时间至 20 d。豫大籽、泰山红、突尼斯软籽、河阴石榴散粉 1 d 后花粉生活力偏低,采用以上品种的花粉进行授粉时宜在散粉 2 d 后进行。本试验中,牡丹花石榴花粉量最多,但室温贮藏其花粉生活力显著下降。泰山红、豫大籽花粉量高,花粉生活力低,分别为 41.6%、32.2%。峰城软籽、大红甜、新疆大籽花粉量偏低,但其花粉生活

力高,分别为 98.6%、92.9%、92.0%,且耐贮藏。可见,花粉量与花粉生活力没有显著相关性,这与刘玲等^[25]对枣树的相关研究结果相一致。因此,在选择适宜的授粉品种时不仅要考虑花朵外观,更要结合品种花粉量与花粉生活力考虑。

参考文献:

[1] 冯玉增,宋梅亭,韩德波.我国石榴种质资源概况[J].中国果树,2006(4):57-58.

[2] 张海峰,白杰,张英.我国石榴资源及其开发利用的研究进展[J].饮料工业,2009(8):1-3.

[3] Nehanjali Parmar,Kamlesh Kanwar,Ajay Kumar Thakur.Direct organogenesis in *Punica granatum* L. cv. Kandhari Kabuli from hypocotyl explants [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences,2013,83(4):569-574.

[4] 尹燕雷,苑兆和一,冯立娟.我国石榴种质资源研究进展[J].山东林业科学,2008,176(3):80-83.

[5] 苑兆和,尹燕雷,朱丽琴,等.石榴保健功能的研究进展[J].山东林业科技,2006,174(1):91-93.

[6] 冯玉增,梅亭,康宇静,等.中国石榴的生产科研现状及产业开发建议[J].落叶果树,2006(1):11-15.

[7] 温素卿.我国石榴的研究进展[J].贵州农业科学,2009,37(7):155-158.

[8] 杨尚尚,苑兆和,李云,等.石榴‘泰山红’的花粉萌发生物学特性[J].林业科学,2013,49(10):48-53.

[9] 王世茹,方丽,李建波.不同桃树品种花粉生活力比较试验初报[J].河南农业科学,2004(2):43-44.

[10] 张雪,梁俊.苹果花粉萌发率影响因素研究初报[J].陕西农业科学,2014,60(1):32-34.

[11] 林敏娟,陈功明,王振磊,等.枣不同品种花粉量及花粉萌发特性的研究[J].塔里木大学学报,2014,26(1):105-108.

[12] 魏国芹,孙玉刚,安森,等.甜樱桃 7 个品种花粉数量及花粉萌芽率测定[J].华北农学报,2010,25(增刊):123-127.

[13] 缙锋利.3 种核桃花粉生活力的比较研究[J].山西农业科学,2014,42(2):140-142.

[14] 王朝凤,杨途熙,魏安智,等.杏不同品种花粉量及花粉萌发特性的研究[J].北方园艺,2012(9):1-5.

[15] 苏来曼·艾则孜,王勇,李玉玲,等.不同鲜食葡萄品种花粉生活力测定及贮藏特性研究[J].现代农业科技,2014(13):73-75.

[16] 赵宏波,陈发棣,房伟民,等.菊属植物花粉生活力检测方法的比较[J].浙江林学院学报,2006,4(9):406-409.

合前人研究^[20],将防病药剂、化肥、植物生长调节剂、成膜剂、缓释剂等应用其中,以研制出既能防病又能促进生长的新型魔芋种芋包衣,为进一步完善魔芋种芋包衣技术发挥更好的作用。

参考文献:

[1] 刘佩瑛.魔芋学[M].北京:中国农业出版社,2004.

[2] Hwtterscheid W, Jttenbach S. Everything you always wanted to know about Amorphophallus but were afraid to strick your nose into[J]. Aroideana, 1996, 19: 13-16.

[3] 崔鸣.魔芋病害综合防治与丰产栽培技术与推广[J].陕西农业科学, 2007(5): 159-161.

[4] 牛义,张盛林.魔芋软腐病和白绢病的发生及综合防治措施[J].西南园艺, 2003, 31(1): 34-35.

[5] 夏良荣,彭家春,封静.魔芋种芋包衣技术[J].栽培与植保, 2006(12): 13.

[6] 张盛林.魔芋调种的技术及营运要点[J].山区开发, 1997(11): 41.

[7] 殷减清.魔芋全程防病高产栽培技术[J].云南农业科技, 2003(4): 30-31.

[8] 刘军民,洪海林.魔芋常见病害的发生与防治[J].植物医生, 2011, 24(4): 11-13.

[9] 胡建斌.魔芋种芋生产中的问题及解决途径[J].贵州农业科学, 2007, 35(1): 127-128.

[10] 王建,乐超银,郭政宏,等.魔芋软腐病致病机理及其生物防治[J].安徽农业科学, 2009, 37(30): 14746-14748.

[11] 张鑫.魔芋软腐病防治综述[J].现代农业科技, 2011(8): 174-175.

[12] 赵磊磊,聂立水,朱清科,等.种子包衣及其在中国的应用研究[J].中国农学通报, 2009, 25(23): 126-131.

[13] 蔡万涛,张雯,侯立白.国外种子包衣技术及其对种子的影响研究进展[J].现代化农业, 2005(9): 7-9.

[14] 吴学宏,刘西莉,王红梅,等.中国种衣剂的研究进展[J].农药, 2003, 43(5): 1-5.

[15] 王建华.种子包衣技术及其在草坪建植中的应用[J].草业科学, 1997, 14(4): 55-57.

[16] 余龙江,杨英,何峰,等.一种魔芋种衣剂及其制备方法和包衣方法:中国, CN101455213A [P]. 2009-06-17.

[17] 杨振生,袁唯.果蔬呼吸强度测定方法[J].保鲜与加工, 2003(2): 24-25.

[18] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社, 2001.

[19] 邹奇.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社, 2000.

[20] 李培夫.中国种衣剂的研制现状与开发应用前景[J].中国农学通报, 1999, 15(1): 35-38.

(上接第118页)

[17] 郭庆,王德斌,王定康,等.海枫藤花粉活力的测定方法比较[J].昆明学院学报, 2009, 31(3): 52-59.

[18] 王彩虹.果树花粉保存研究进展[J].落叶果树, 1996(增刊): 35-39.

[19] 何莉,贾文庆.郁李花粉生活力及贮藏特性的研究[J].天津农业科学, 2013, 19(5): 5-8.

[20] 申书兴.园艺植物育种学实验指导书[M].北京:中国农业大学出版社, 2011.

[21] 李洪涛,陈海燕,李东伟,等.7个月季品种花粉活力的测定[J].河南农业科学, 2014, 43(8): 117-119.

[22] 黄家兴,吴杰,安建东,等.凯特杏花粉的离体培养及

影响因子分析[J].西北植物学报, 2008, 28(1): 52-58.

[23] 刁永强,耿文娟,廖康,等.新疆野生杏花粉量及花粉活力研究初报[J].新疆农业科学, 2012, 49(1): 40-45.

[24] 赵长星,刘成连.培养基种类及蔗糖浓度对部分果树花粉发芽率的影响[J].河北林果研究, 2001, 16(3): 240-243.

[25] 刘玲,王玖瑞,刘孟军,等.枣不同品种花粉量和花粉萌发率的研究[J].植物遗传资源学报, 2006, 7(3): 338-341.